

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

OBER DIE WIRKUNG VON VAGUSREIZUNG UND ACETYLCHOLIN
AUF DAS HÖRNERHERZ

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von Petra Letschert
aus Koblenz

Mainz 1978

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552618_0049

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

ÜBER DIE WIRKUNG VON VAGUSREIZUNG UND ACETYLCHOLIN
AUF DAS HÖHNERHERZ

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von Petra Letschert
aus Koblenz

Mainz 1978



Fachbereichsdekan

: Professor Dr. G. Mann

1. Gutachter

: Professor Dr. K. Löffelholz

2. Gutachter

: Professor Dr. H. Kilbinger

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juni 1979

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Seite

A. EINLEITUNG	1
B. METHODEN	3
a) Die biologischen Präparate	3
- isolierte, perfundierte Herzen	3
- isolierte Vorhöfe und Ventrikelstreifen	4
b) Versuchsplan	4
- Aquilibrierung der Präparate	4
- Zugabe von Acetylcholin und Eserin	5
- Reizung inkubierter Präparate	5
c) Auswertung der Versuchsergebnisse	5
- Berechnung der Parameter einer Kontraktionskurve	5
- Statistische Methoden	6
d) Verwendete Substanzen	6
C. ERGEBNISSE	7
a) Die Wirkung von Vagusreizung und Acetylcholin auf die Frequenz und die Kontraktionskraft perfundierter Herzen verschiedener Spezies	7
b) Die Wirkungen von Acetylcholin auf die Kontraktionskraft des isolierten rechten und linken Vorhofs und des Ventrikelstreifens des Hühnerherzens	8
c) Der Einfluß der Reizfrequenz auf die Kontraktion isolierter Streifen des rechten Ventrikels	16
D. DISKUSSION	24
a) Die parasymphatische Innervation des Hühnerherzens	24
b) Die parasymphatische Regulation der Schrittmacheraktivität	24
c) Die negativ inotrope Wirkung von Acetylcholin in Vorhöfen und im rechten Ventrikel	26
d) Analyse der negativ inotropen Wirkung von Vagusreizung auf das perfundierte Hühnerherz	31
E. ZUSAMMENFASSUNG	35
F. LITERATURVERZEICHNIS	36
LEBENS LAUF	

A. EINLEITUNG

Auf Grund histologischer Arbeiten hat sich die Auffassung durchgesetzt, daß nicht nur die Vorhöfe, sondern auch die Ventrikel des Hühnerherzens dicht cholinerg innerviert sind (Gossrau, 1968) (Übersicht von Bolton, 1976). Dementsprechend war auch der Acetylcholingehalt des Hühnerventrikels viel höher als der des Kaninchenventrikels (Kilbinger und Löffelholz, 1976). Bolton (1967) fand, daß sich die Kontraktionskraft isolierter Hühnerventrikelstreifen durch Feldstimulation (4-6 Hz) stark verminderte. Auch die Zugabe von Acetylcholin (10^{-7} g/ml) zu den isolierten elektrisch gereizten Ventrikelstreifen bewirkte eine Abnahme der Kontraktionskraft um 60-70%. Da beide negativ inotropen Wirkungen durch Atropin (10^{-7} g/ml) und durch Hyoscin (2×10^{-8} g/ml) aufgehoben wurden, schloß Bolton daraus, daß diese Ventrikel nicht nur cholinerg innerviert, sondern auch besonders empfindlich gegenüber Acetylcholin sind. Ähnliche Ergebnisse erhielt Bolton bei Versuchen mit Taubenventrikelstreifen, wohingegen die Kontraktionsamplitude von Ventrikelstreifen von Säugetieren (Ratte, Meerschweinchen) weder bei Feldstimulation noch bei Zugabe von Acetylcholin abnahm, sondern sogar anstieg. Bei Versuchen am perfundierten Hühnerherzen fiel den Autoren Dieterich et al. (1976) eine starke Abnahme der Kontraktionskraft des Ventrikels bei Vagusreizung auf, die mit einer Empfindlichkeit des Ventrikels gegenüber Acetylcholin erklärt wurde. In den letzten Jahren wurde in der Arbeitsgruppe, in der auch die vorliegende Dissertation entstand, gezeigt, daß die Acetylcholinabgabe nach Vagusreizung aus isolierten perfundierten Vogelherzen (Hühner, Enten, Tauben) sehr hoch war und sogar in Abwesenheit eines Cholinesterasehemmstoffs gemessen werden konnte (Kilbinger und Löffelholz, 1976; Dieterich et al., 1977). Eine Abgabe von Acetylcholin in das Perfusat isolierter Säugetierherzen war unter denselben Bedingungen nicht meßbar.

Die dargestellten histologischen, funktionellen und biochemischen Ergebnisse fügen sich widerspruchsfrei zusammen. Weitere Untersuchungen schienen unnötig zu sein, wenn nicht andere Untersuchungen eine relative Unempfindlichkeit des Ventrikelmyokards - im Gegensatz zu den Befunden von Bolton (1967) - gefunden hätten.

So fanden Baumann et al. (1960), daß isolierte elektrisch gereizte Hühner-ventrikelpreparate auf Acetylcholin nur wenig empfindlich waren: Acetylcholin in Konzentrationen von $1,8 \times 10^{-6}$ bis $1,8 \times 10^{-4}$ g/ml (10^{-5} bis 10^{-3} M) hatte sogar einen meist positiv inotropen Effekt auf den Ventrikel. Ferner läßt sich in den Ergebnissen von Kissling et al. (1972) nur ein geringer negativ inotroper Effekt von Feldstimulation des Hühnerventrikels erkennen.

Daß bei niederen Wirbeltieren unter Vagusreizung auch am Ventrikelmyokard ein stark negativ inotroper Effekt auftritt (Bauereisen, 1941; Dieterich et al., 1976) weist nicht notwendigerweise auf eine relativ große Empfindlichkeit des Ventrikels gegenüber Acetylcholin hin. Die Abnahme der Kontraktionsamplitude könnte auch indirekt durch den chronotropen Effekt entstehen, da man aus Versuchen mit Säugetier- und Froschherzen erfahren hat, daß eine Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude von der Frequenz besteht (Bowditch, 1871; Koch-Weser und Blinks, 1963; Dale, 1932). Dieses Phänomen bezeichnete Bowditch (1871) als "Treppe".

Ob die Kontraktilität der Ventrikelmuskulatur durch parasympathische Nerven kontrolliert wird, ist eine alte Kontroverse (siehe Übersicht von Higgings et al., 1973). Die Gegensätze scheinen bei den Vogelherzen besonders krass zu sein (siehe oben). Dieses Problem ist vor jenem Hintergrund besonders deutlich, wonach bei phylogenetisch älteren Tierspecies nicht nur die cholinerge Innervation (Burnstock, 1969), sondern auch die Empfindlichkeit des Ventrikels gegenüber Acetylcholin (siehe Kissling et al., 1972) größer war. So fanden Baumann et al., (1960), daß der Froschventrikel, nicht aber der Hühnerventrikel, auf Acetylcholin $1,8 \times 10^{-6}$ bis $1,8 \times 10^{-4}$ g/ml (10^{-5} bis 10^{-3} M) mit einer Abnahme der Ventrikelkontraktion reagierte.

Auf Grund der genannten Widersprüche und der Aktualität, die sich aus der kürzlich gefundenen hohen Acetylcholinabgabe aus dem Hühnerherzen ergibt, wird die Wirkung der Vagusreizung auf die Schrittmacheraktivität und die Kontraktionskraft dieses Herzens in der vorliegenden Arbeit untersucht.

B. METHODEN

Die Herzen folgender Tiere wurden verwendet:

HNL-Hühner (1000 bis 1800 g, 16-20 Wochen alt),

Kaninchen (2000 bis 2200 g, ca. 10 Wochen alt),

Meerschweinchen (300 bis 400 g, ca. 10 Wochen alt).

Die Tiere wurden durch Nackenschlag betäubt, dekapitiert und entblutet, und die Herzen für die unten beschriebenen "biologischen Präparate" verwendet. Die Temperatur der Perfusions- und Inkubationslösung wurde so eingestellt, daß im Präparat eine Temperatur entstand, die der Körpertemperatur entsprach: Huhn 40°C , Kaninchen und Meerschweinchen 36°C . Die Perfusions- und Inkubationslösung wurde mit einem Gemisch aus 95% O_2 und 5% CO_2 (Carbogen) begast, und hatte folgende Zusammensetzung (g/l):
 NaCl 8,00; KCl 0,20; CaCl_2 0,20; MgCl_2 0,10; NaHCO_3 1,00; NaH_2PO_4 0,05; Glucose 1,00.

In 8 Versuchen wurde entsprechend der Angabe von T.B. Bolton (1967) die folgende Tyrodelösung verwendet (g/l): NaCl 6,93; KCl 0,34; CaCl_2 0,30; MgCl_2 0,11; KH_2PO_4 0,16; NaHCO_3 2,10; Glucose 2,00; Saccharose 4,50.

a) Die biologischen Präparate

Isolierte, perfundierte Herzen: Isolierte Herzen wurden nach Langendorff (1895) perfundiert, d.h. das Myokard wurde orthograd von der Aorta her perfundiert. Die Perfusionsapparatur ist in dem Buch "Kurs der allgemeinen Pharmakologie" (Kuschinsky et al., 1974) beschrieben. Die Ableitung der Spannungsentwicklung des rechten Ventrikels erfolgte horizontal nach der Methode von Beckett (1970). Sie wurde über Dehnungsmeßstreifen (DMS) auf einen 2-Kanal-Schreiber (Fa. Hellige) registriert. Die Vorspannung betrug bei Huhn- und Kaninchenherzen 8-10 g, und bei Meerschweinchenherzen ca. 5 g. Die Durchflußgeschwindigkeit wurde mit Hilfe einer Peristaltikpumpe (Fa. Desaga) konstant gehalten (Huhn und Kaninchen 20 ml/min, Meerschweinchen 10 ml/min). Zur Vagusreizung wurden die beiden Nervi Vagi durch ringförmig gebogene Elektroden gezogen. Um ein Austrocknen der Nerven zu verhindern, waren die Platinelektroden in einen Plexiglaskanal eingeschlossen. Die Vagusreizung erfolgte mit supramaximaler Stromstärke bei 20 Hz und einer Impulsdauer von 1 msec mit

Hilfe eines elektrischen Reizgerätes (Grass-Stimulator S 6) mit biphasischen Rechteckimpulsen.

Isolierte Vorhöfe und Ventrikelstreifen: Vorhof- und Ventrikelstreifenpräparate wurden ebenfalls aus den Herzen der oben genannten Spezies (Huhn, Kaninchen, Meerschweinchen) hergestellt. Im Bad wurden 60 ml einer Tyrodelösung mit Carbogen begast. Substanzen wurden in Volumina bis zu 0,5 ml der Inkubationslösung zugesetzt. Zur Spülung und Erneuerung wurde dieselbe über den Ablauf entfernt und durch Nachgießen frischer, in einem Wasserbad vorgewärmter Nährlösung ersetzt.

Die beiden Vorhöfe wurden entlang der Atrioventrikularlinie vom Kammergewebe und von einander getrennt. An entgegengesetzten Enden eines jeden Vorhofs wurde jeweils ein Faden angeschlungen. Der untere Faden wurde an dem Organhalter bzw. der Elektrode befestigt, der obere Faden führte zu dem DMS-Aufnehmer.

Der linke (nicht spontan schlagende) Vorhof wurde mit einem Reizgerät zwischen 1 und 7 Hz und einer Impulsdauer von 2 msec supramaximal gereizt. Die Vorhöfe wurden mit 500 bis 1000 mg vorgespannt.

Die Präparation der Ventrikelstreifen lehnt sich an die Methode von T.B. Bolton (1967) an: Aus der Wand des rechten Ventrikels wurde ein dreieckiges, gleichschenkliges Gewebstück geschnitten. Die Basis des Dreiecks (ca. 2 mm, der Atrioventrikularlinie zugewandt) wurde mit Hilfe eines Fadens so an den Organhalter geknotet, daß der Streifen in der Mitte zwischen die beiden Elektroden zu liegen kam. Die Spitze des Ventrikelstreifens, (der Apex cordis zugewandt) führte über einen Faden zu dem DMS-Aufnehmer. Die Vorspannung der Ventrikelstreifen betrug 500 bis 1000 mg. Die Reizung erfolgte supramaximal mit einer Frequenz zwischen 1 und 7 Hz und einer Impulsdauer von 2 msec.

b) Versuchsplan

Aquibrierung der Präparate: Die Herzen wurden vor Versuchsbeginn 15 Minuten lang perfundiert. Die isolierten Vorhöfe und Ventrikelstreifen ließ man so lange äquilibrieren, bis sie sich gleichmäßig kontrahierten, was nach mindestens 15 Minuten erreicht war.

Zugabe von Acetylcholin und Eserin: In 4-minütigen Abständen wurden der Badlösung inkubierter Präparate mit der Pipette steigende Mengen an Acetylcholin so zugegeben, daß sich im Bad kumulativ Acetylcholin-Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-4} g/ml ergaben. Nach jeder kumulativen Acetylcholin-Zugabe wurden die Präparate in 5-minütigen Abständen mit frischer Tyrodelösung gespült und nach insgesamt 15 Minuten eine zweite Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin aufgestellt. Mit dieser zweiten Acetylcholinbehandlung wurde die Regenerationsfähigkeit der Präparate geprüft. In einer zweiten Versuchsreihe wurde Acetylcholin in einer Konzentration von 10^{-6} g/ml einmalig der Badlösung von Hühnerventrikelseifen zugesetzt, um eine eventuelle Desensibilisierung durch die kumulative Zugabe zu umgehen.

Vor der Zugabe von Eserin wurde eine Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin aufgestellt. Nach dem Spülen wurde Eserin in einer Konzentration von 6×10^{-9} g/ml zur Badlösung pipettiert. Nach weiteren 15 Minuten wurde dann in Anwesenheit von Eserin die zweite kumulative Dosis-Wirkungs-Kurve von Acetylcholin ermittelt.

Reizung inkubierter Präparate: Die inkubierten Präparate (außer dem spontan schlagenden rechten Vorhof) wurden mit 2 seitlich anliegenden Elektroden supramaximal (etwa doppelt maximale Spannung), mit Reizfrequenzen zwischen 1 bis 7 Hz und mit 2 msec Impulsdauer gereizt. Bei Prüfung der Abhängigkeit der Kontraktion von der Reizfrequenz ("Treppe") wurde die Reizfrequenz in Perioden von 3 Minuten kontinuierlich von 1 bis 7 Hz gesteigert und die Änderung von Kontraktionskraft, Anstiegszeit und Kontraktionsgeschwindigkeit untersucht. In einigen Versuchen war Atropin in einer Konzentration von $2,9 \times 10^{-7} M$ (10^{-7} g/ml) vor und während des "Treppenversuchs" anwesend.

c) Auswertung der Versuchsergebnisse

Berechnung der Parameter einer Kontraktionskurve: Der Kontraktionsablauf wurde mit dem Zweikanalschreiber durch schnellen Papiervorschub aufgezeichnet (Abb. 1). Die maximale Spannungsentwicklung (p_{max}) entspricht der Länge des Lots vom Scheitelpunkt zur Basis, ausgedrückt in g Spannungsentwicklung pro g Feuchtgewicht. Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit (dp/dt) wurde aus dem steilsten geraden Anteil des ansteigenden Schenkels durch Extrapolation errechnet. Als dritte Meßgröße wurde

die Zeit zwischen der diastolischen Spannung und nachfolgenden maximalen systolischen Spannung gemessen; diese Größe wurde als Anstiegszeit bezeichnet.

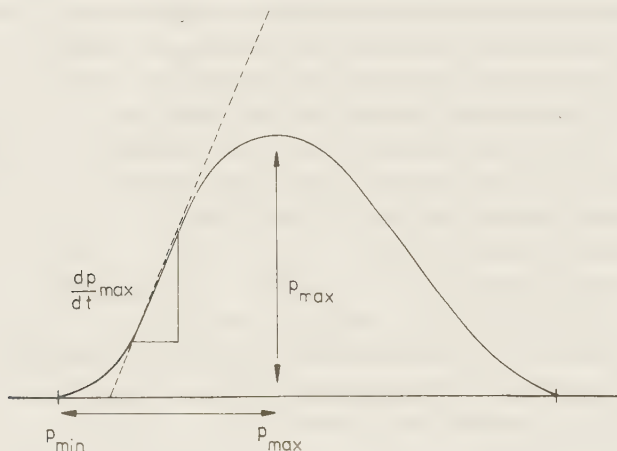


Abb. 1: Darstellung der ausgemessenen Parameter an einer Druckkurve

$p_{\max}$	= Kontraktionskraft bzw. Kontraktionsamplitude pro g Feuchtgewicht (g/g)
$d_p/d_t \max$	= Anstiegs- bzw. Kontraktionsgeschwindigkeit (cm/sec)
$p_{\min} \quad \max$	= Anstiegszeit (sec)

Statistische Methoden: Aus den Meßergebnissen wurden arithmetisches Mittel, Standardabweichung und mittlerer Fehler des Mittelwerts aus einer Anzahl von n Versuchen errechnet. Als Signifikanzprüfung wurde der Student-t-Test für unverbundene Stichproben verwendet. Ein P-Wert bis 0,05 (= 5% Irrtumswahrscheinlichkeit) wurde als statistisch signifikant bezeichnet.

d) Verwendete Substanzen: Acetylcholinjodid (Fluka, Bucks, Schweiz),
Eserinsulphat (= Physostigminsulphat) (Merck, Darmstadt),
Atropinsulphat (C.H. Boehringer, Ingelheim).

C. ERGEBNISSE

a) Die Wirkung von Vagusreizung und Acetylcholin auf die Frequenz und die Kontraktionskraft perfundierter Herzen verschiedener Spezies

Reizung beider Nn. Vagi mit 20 Hz verminderte die Kontraktionskraft des rechten Ventrikels. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Frequenz des Hühnerherzens verminderte sich signifikant weniger (auf 42% der Ausgangsfrequenz, bzw. von 162 ± 13 auf 69 ± 11 Schläge/min, $n = 16$) als die des Kaninchenherzens (auf 16% der Ausgangsfrequenz, bzw. von 183 ± 9 auf 29 ± 4 Schläge/min, $n = 3$) und die des Meerschweinchens (auf 6% der Ausgangsfrequenz, bzw. von 206 ± 27 auf 12 ± 6 Schläge/min, $n = 3$). Die Abnahme der Kontraktionskraft war bei den drei Spezies mit etwa 40% nicht signifikant voneinander verschieden. Die Anstiegsgeschwindigkeit verlangsamte sich mehr beim Meerschweinchen als bei Huhn und Kaninchen, die sich in dieser Hinsicht nicht unterschieden. Die Anstiegszeit hatte sich bei allen drei Spezies kaum verändert.

Die Versuche wurden in einer zweiten Versuchsreihe mit Infusion von Acetylcholin anstelle der Vagusreizung wiederholt, wobei eine Konzentration von Acetylcholin ($1,8 \times 10^{-7}$ g/ml = 10^{-6} M) gewählt wurde, die die Kontraktionskraft des Herzens der drei untersuchten Spezies ungefähr ebenso stark senkte (um 44%) wie Vagusreizung mit 20 Hz (um 34%). In diesen Versuchen änderten sich Frequenz, Anstiegszeit und Anstiegsgeschwindigkeit in der folgenden Weise.

1. Unter den drei Spezies nahm die Frequenz des Hühnerherzens wiederum am wenigsten ab (auf 74% der Kontrolle, d.h. von 160 ± 25 auf 120 ± 23 Schläge/min, $n = 4$); bei Meerschweinchen (von 197 ± 30 auf 56 ± 5 Schläge/min, $n = 4$) und Kaninchen (von 177 ± 9 auf 48 ± 23 Schläge/min, $n = 5$) fiel die Frequenz auf ca. 30% der Kontrolle.
2. Die Anstiegszeit hatte sich bei allen drei Spezies um durchschnittlich 20% gegenüber dem Kontrollwert verlängert.
3. Doch auch in der Wirkung von Acetylcholin auf die Anstiegsgeschwindigkeit unterschied sich das Hühnerherz (Abnahme auf 28% der Kontrolle) signifikant von den Herzen der Meerschweinchen und Kaninchen, wo geringere Abnahmen (auf 49% bzw. 54%) sichtbar wurden.

Das auffälligste Ergebnis dieser Versuche war, daß am Hühnerherzen Vagusreizung und exogenes Acetylcholin eine relativ geringe negativ chronotrope Wirkung bei einer ausgeprägten Abnahme der Kontraktionskraft des rechten Ventrikels bewirkten. Dieses Ergebnis wurde im Folgenden analysiert.

b) Die Wirkungen von Acetylcholin auf die Kontraktionskraft des isolierten rechten und linken Vorhofs und des Ventrikelstreifens des Hühnerherzens

Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin

Die kumulative Zugabe von Acetylcholin in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-4} g/ml senkte die Kontraktionskraft des rechten Ventrikels ($100\% = 2,5 \pm 1,2$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$) relativ wenig (Abb. 2). Die maximale Wirkung zeigte sich bereits bei einer Acetylcholin-Konzentration von 10^{-8} g/ml: die Kontraktionsamplitude sank auf $81,8 \pm 3,6\%$ ($2,2 \pm 1,1$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$, bezogen auf den Kontrollwert vor Acetylcholin-Zugabe). Bei weiterer Steigerung der Acetylcholin-Konzentration nahm die Kontraktionskraft nicht weiter ab und betrug bei 10^{-4} g/ml Acetylcholin $87 \pm 3\%$ ($2,3 \pm 1,2$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$).

Bei Verwendung einer Tyrodelösung mit erhöhter Kalium-Konzentration ($0,34$ g/l KCl) und erhöhter Calcium-Konzentration ($0,3$ g/l CaCl_2) (genaue Zusammensetzung siehe Methode) verminderte sich jedoch in 4 von 8 Versuchen die Kontraktionskraft des rechten Ventrikels ($100\% = 3,1 \pm 0,9$ g/g Feuchtgewicht, $n = 4$) nach 10^{-10} g/ml Acetylcholin schon auf $85 \pm 2\%$ ($2,7 \pm 0,8$ g/g Feuchtgewicht, $n = 4$). Nach 10^{-4} g/ml hatte sich die Kontraktionskraft auf $40 \pm 6\%$ ($1,3 \pm 0,5$ g/g Feuchtgewicht, $n = 4$) reduziert (Abb. 3).

Es ist auffällig (Tab. 2), daß die an den Ventrikelstreifen ermittelten ED_{50} von Acetylcholin (auch bei der modifizierten KCl- CaCl_2 -Konzentrationen) niedriger war als die ED_{50} , die sich aus Versuchen an den verschiedenen Vorhofpräparaten ergaben.

Im Vergleich zum rechten Ventrikel zeigten die Dosis-Wirkungs-Kurven am linken Vorhof bei Acetylcholin-Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-8} g/ml eine leichte, wenn auch nicht signifikante Steigung über 100% ($1,0 \pm 0,4$ g/g Feuchtgewicht) hinaus, fielen dann aber bei einer Konzentration von 10^{-7} bis 10^{-4} g/ml stetig bis auf Werte von $23,6 \pm 3\%$ ($0,26 \pm 0,10$ g/g Feuchtgewicht, $n = 7$) (1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve) bzw. $13,4 \pm 2,6\%$ ($0,16 \pm 0,05$ g/g Feuchtgewicht, $n = 7$) (2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve) ab (Abb. 2). Die Kontraktionskraft des isolierten rechten Vorhofs verminderte sich bei einer Acetylcholin-Konzentration von 10^{-6} g/ml auf

Tab. 1: Die Wirkungen von Acetylcholin (ACh) und Vagusreizung auf die Kontraktion perfundierter Herzen bei verschiedenen Spezies

ACh	Frequenz (%)		Amplitude (%)		Anstiegszeit (%)		Anstiegsge- schwindigkeit (%)		Amplitude bei Verminderung der Frequenz um 50% (180 auf 90 S/min) (%)
	Acetyl- cholin	Vagus- reizung	Acetyl- cholin	Vagus- reizung	Acetyl- cholin	Vagus- reizung	Acetyl- cholin	Vagus- reizung	
$1,8 \times 10^{-7}$ g/ml $= 10^{-6} M$									
Huhn	74 ± 9 (4)	42 ± 4 (16)	48 ± 12 (4)	67 ± 3 (16)	123 ± 12 (4)	96 ± 9 (13)	28 ± 4 (4)	68 ± 6 (13)	37 (13)
Kaninchen	27 ± 10 (5)	16 ± 3 (3)	59 ± 16 (5)	63 ± 8 (3)	115 ± 12 (4)	106 ± 7 (3)	54 ± 6 (4)	76 ± 6 (3)	80 (8)
Meerschwein- chen	31 ± 5 (4)	6 ± 3 (3)	62 ± 6 (4)	59 ± 13 (3)	124 ± 6 (4)	119 ± 7 (3)	49 ± 3 (4)	38 ± 7 (3)	62 (4)

Die Wirkungen sind in Prozent der Kontrolle (Wert vor ACh-Zugabe bzw. Vagusreizung) angegeben und als Mittelwerte $\pm$ mittlerem Fehler des Mittelwertes aus einer Anzahl von n Versuchen ausgedrückt (Berechnung der Wirkungen s. Abb. 1). Die Temperatur betrug $36^{\circ}C$. Die Nervi Vagi wurden mit einer Frequenz von 20 Hz und einer Impulsdauer von 1 msec supramaximal gereizt. Die Verminderung der Kontraktionskraft bei Verminderung der Frequenz um 50% (von 180 auf 90 Schläge pro Minute) wurde extrapoliert aus den Abbildungen.

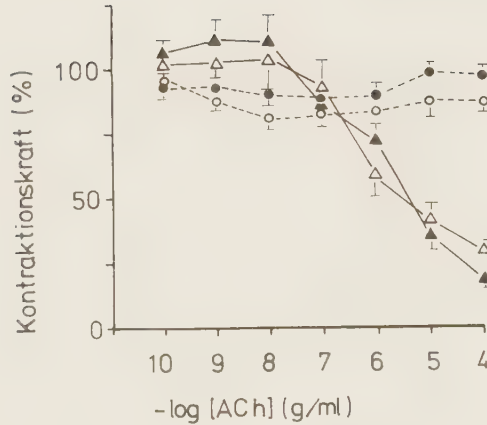


Abb. 2: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf den isolierten rechten Hühnerventrikel und linken Vorhof

Linker Vorhof (Dreiecke) und Streifen des rechten Ventrikels (Kreise) wurden bei 40° C inkubiert und mit 4 Hz (2 msec Impulsdauer) gereizt. Die ACh-Konzentration wurde in 3-minütigem Abstand kumulativ erhöht. Zur Beurteilung der Regenerationsfähigkeit der Präparate wurde nach 3-maligem Spülen und 5 Minuten nach Beendigung der 1. Dosis-Wirkungskurve (offene Symbole) eine 2. Dosis-Wirkungs-Kurve (geschlossene Symbole) von ACh erstellt.

Ordinate: Kontraktionskraft, berechnet in g pro g Feuchtgewicht und ausgedrückt in % der Ausgangsspannung (rechter Ventrikel, 1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $2,5 \pm 1,2$ g/g Feuchtgewicht; 2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $1,6 \pm 0,8$ g/g Feuchtgewicht).

Abszisse: negativer Logarithmus der ACh-Konzentration (g/ml). Dargestellt sind Mittelwerte + mittlerem Fehler des Mittelwertes von jeweils 6 Versuchen (rechter Ventrikel) bzw. 7 Versuchen (linker Vorhof).

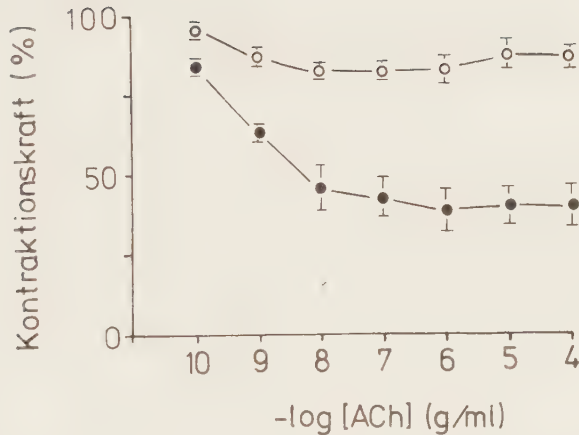


Abb. 3: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf den isolierten rechten Hühnerventrikel bei Inkubationslösungen mit unterschiedlichem Elektrolytgehalt

Streifen des rechten Ventrikels wurden bei 40°C inkubiert und mit 4 Hz (2 msec Impulsdauer) gereizt. Die Acetylcholin-Konzentration wurde kumulativ in 3 minütigen Abständen geändert. Die Präparate wurden in der Tyrodelösung inkubiert, die T.B. Bolton (1967) verwandt hatte (g/l: KCl 0,34; CaCl₂ 0,3, geschlossene Kreise) und zum Vergleich in der Tyrodelösung, die in der vorliegenden Arbeit gebraucht wurde (g/l: KCl 0,2; CaCl₂ 0,2, offene Kreise).

Ordinate: Kontraktionskraft, berechnet in g pro g Feuchtgewicht und ausgedrückt in % der Ausgangsspannung.

Abzisse: negativer Logarithmus der ACh-Konzentration (g/ml). Dargestellt sind Mittelwerte + mittlerem Fehler des Mittelwertes aus jeweils 4 (geschlossene Kreise) bzw. 6 (offene Kreise).

Tab. 2: ED_{50} -Werte von Acetylcholin ermittelt an Vorhof- und Ventrikelpräparaten des Hühnerherzens bei Inkubationslösungen mit unterschiedlichem Elektrolytgehalt

K- und Ca-chloridgehalt der Tyrodelösung (g/l)	Verminderung von Kontraktionskraft bzw. Frequenz um 50 %	ED_{50} von Acetyl- cholin (g/ml)
KCl 0,34 CaCl ₂ 0,3	rechter Ventrikel Kontraktionskraft	2×10^{-9}
"Normale" Tyrodelösung KCl 0,2 CaCl ₂ 0,2	rechter Ventrikel Kontraktionskraft	7×10^{-10}
	linker Vorhof Kontraktionskraft	7×10^{-7}
	rechter Vorhof Kontraktionskraft	3×10^{-7}
	rechter Vorhof Frequenz	1×10^{-6}

$34 \pm 5\%$ ($0,40 \pm 0,17$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$) (1. ACh-Durchgang) bzw. auf $43 \pm 10\%$ ($0,20 \pm 0,10$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$) (2. ACh-Durchgang). Bei einer Acetylcholin-Konzentration von 10^{-4} g/ml betrug sie im 1. ACh-Durchgang $12 \pm 3\%$ ($0,10 \pm 0,04$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$) und im 2. ACh-Durchgang $14 \pm 3\%$ ($0,06 \pm 0,03$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$) des Ausgangswertes (Abb. 4). Die Frequenz des spontan schlagenden rechten Vorhofs verringerte sich deutlich bei einer Acetylcholin-Konzentration von 10^{-6} g/ml auf $70 \pm 15\%$ (120 ± 25 Schläge pro Minute, $n = 6$) (1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve) bzw. $72 \pm 9\%$ (135 ± 9 Schläge pro Minute, $n = 6$) (2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve), was einer Schlagzahl von rund 130 Schlägen pro Minute entsprach, und verminderte sich dann bei einer Acetylcholin-Konzentration von 10^{-4} g/ml weiter auf $39,3 \pm 21\%$ im 1. ACh-Durchgang bzw. sogar $5,4 \pm 5\%$ im 2. ACh-Durchgang ($n = 6$). Die Frequenz hatte sich von 180 ± 18 Schlägen pro Minute vor Acetylcholin-Zugabe auf maximal 11 ± 11 Schläge pro Minute ($n = 6$) vermindert (Abb. 5).

Die Wirkung einer einmaligen Acetylcholindosis auf den rechten Ventrikel

Auf Grund des geringen negativ inotropen Effekts durch eine kumulative Zugabe von Acetylcholin zu dem Organbad des Ventrikelmyocards wurde, um eine eventuelle Desensibilisierung des Myocards gegenüber Acetylcholin auszuschließen, eine einmalige Dosis von Acetylcholin 10^{-6} g/ml der Badlösung zugesetzt. Aber auch hiernach verminderte sich die Kontraktionsamplitude nur auf $90 \pm 2\%$ ($5,70 \pm 2,00$ g/g Feuchtgewicht) des Kontrollwertes, d.h. des Wertes vor Acetylcholin-Zugabe ($6,30 \pm 2,00$ g/g Feuchtgewicht, $n = 6$).

Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin in Anwesenheit von Eserin

Am linken Vorhof und an Streifen des rechten Ventrikels wurden wiederum Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin aufgestellt und mit Dosis-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin in Anwesenheit einer Eserin-Konzentration von 6×10^{-9} g/ml verglichen. Am linken Vorhof verstärkte Eserin bis zu einer Acetylcholin-Konzentration von 10^{-7} g/ml dessen Wirkung. Im weiteren Verlauf (10^{-6} bis 10^{-4} g/ml) wurde der negativ inotrope Effekt von Acetylcholin durch die Anwesenheit von Eserin sogar abgeschwächt. Diese als

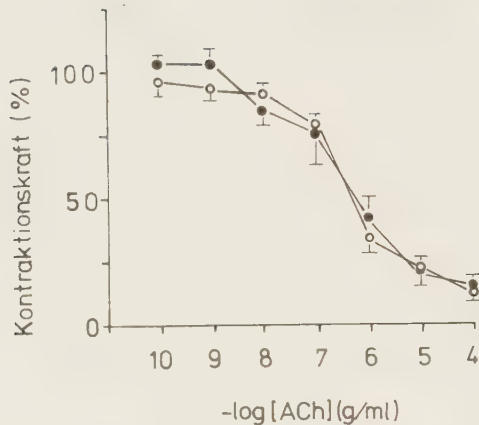


Abb. 4: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf die Kontraktionskraft des isolierten, spontan schlagenden rechten Hühnervorhofs

Der isolierte, spontan schlagende rechte Vorhof wurde bei 40°C inkubiert. In Abständen von 3 Minuten wurde ACh kumulativ in steigenden Konzentrationen der Badlösung in 2 Durchgängen zugesetzt.

1. Durchgang: offene Kreise

2. Durchgang: geschlossene Kreise

Ordinate : Kontraktionskraft, berechnet in g pro g Feuchtgewicht und ausgedrückt in % der Ausgangsspannung

(1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $1,0 \pm 0,1$ g/g FG;

2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $0,8 \pm 0,2$ g/g FG).

Abszisse : negativer Logarithmus der ACh-Konzentration (g/ml).

Dargestellt sind Mittelwerte $\pm$ mittlerem Fehler des Mittelwertes aus 6 Versuchen.

Weitere Einzelheiten siehe Abb. 2.

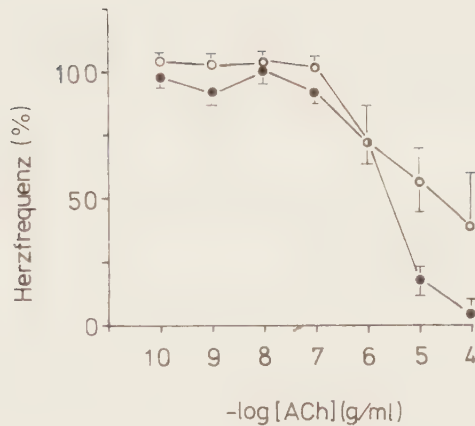


Abb. 5: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf die Frequenz des isolierten, spontan schlagenden rechten Hühnervorhofs

Der isolierte, spontan schlagende Vorhof wurde bei $40^{\circ}C$ inkubiert. In Abständen von 3 Minuten wurde der Badlösung kumulativ ACh in steigenden Konzentrationen in 2 Durchgängen zugesetzt. 1. Durchgang: offene Kreise; 2. Durchgang: geschlossene Kreise.

Ordinate: Herzfrequenz in % der Ausgangsfrequenz (1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: 181 ± 17 Schläge pro Minute; 2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve 189 ± 18 Schläge pro Minute).

Abszisse: negativer Logarithmus der ACh-Konzentration (g/ml). Dargestellt sind Mittelwerte $\pm$ mittlerem Fehler des Mittelwerts aus 6 Versuchen.

Weitere Einzelheiten siehe Abb. 2.

"atropinartig" zu bezeichnende Wirkung (Quilliams und Strong, 1949; Tedeschi 1954) war besonders ausgeprägt bei 10^{-5} und 10^{-4} g/ml Acetylcholin (Abb. 6). Ebenso konnte auch die Wirkung von 10^{-7} g/ml Eserin auf die Ventrikelstreifen gewertet werden (Abb. 7): hier hemmte Eserin die geringe negativ inotrope Wirkung von Acetylcholin (10^{-7} bis 10^{-6} g/ml) und führte sogar zu einer Steigerung der Kontraktionskraft um ca. 10% bei 10^{-6} bis 10^{-4} g/ml Acetylcholin.

c) Der Einfluß der Reizfrequenz auf die Kontraktion isolierter Streifen des rechten Ventrikels

Die Kurven, in welchen Reizfrequenz und Kontraktionskraft zueinander in Beziehung gesetzt wurden, zeigten einen glockenförmigen Verlauf bei allen drei Spezies mit den Maxima bei 3 Hz (Huhn und Meerschweinchen) und erst bei 4 Hz beim Kaninchen. Bei Erhöhung der Reizfrequenz von 2 auf 3 Hz (entsprechend 120 bzw. 180 Schläge/min) nahm die Kontraktionskraft am stärksten zu. Diese maximale Steigerung der Kontraktionskraft gegenüber dem Ausgangswert (Reizung mit 1 Hz = 100%) war beim Hühnerherzen $328 \pm 26\%$ ($n = 15$), beim Meerschweinchen $183 \pm 38\%$ ($n = 8$) und beim Kaninchen $142 \pm 14\%$ ($n = 4$).

Die Kontraktionskraft fiel beim Hühnerherzen bei einer Reizfrequenz von 7 Hz (entspricht 420 Schläge/min) auf $220 \pm 18\%$ ab. Die Kontraktionskraft des Meerschweinchenherzens fiel bei 4 Hz auf $181 \pm 34\%$ und bei 7 Hz auf $116 \pm 16\%$ ab, ähnlich wie beim Kaninchenherzen, dessen Kontraktionskraft bei 7 Hz $114 \pm 2\%$ betrug (Abb. 8). Die ausgeprägte "positive Treppe" beim Ventrikelstreifen des Huhns ist nicht auf eine unterschiedliche Ausgangslage zurückzuführen, denn die Kraftentwicklung bei 1 Hz war 2,10 g pro g Feuchtgewicht, sowohl bei den Präparaten vom Hühner- als auch vom Meerschweinchenventrikel, und war nur geringfügig höher beim Kaninchenventrikel (2,20 g pro g Feuchtgewicht).

Im Gegensatz zu den Änderungen der Frequenz und Kontraktionskraft unterschieden sich die Frequenz-Anstiegs-Kurven (Abb. 9) bei Meerschweinchen und Kaninchen nicht wesentlich. Sie zeigten bei Anstieg von 1 bis 7 Hz eine Verkürzung gegenüber dem Ausgangswert (Reizung mit 1 Hz ergab 100% = $0,08 \pm 0,02$ sec bei Meerschweinchen und 100% = $0,09 \pm 0,09$ sec bei Kaninchen) auf $70 \pm 15\%$ (Meerschweinchen) bzw. auf $60 \pm 6\%$ (Kaninchen).

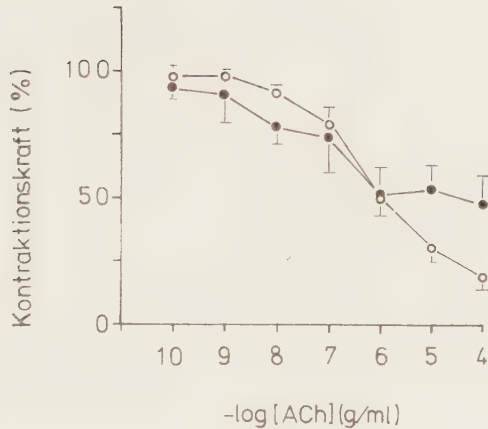


Abb. 6: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf den isolierten linken Hühnervorhof in Ab- und Anwesenheit von Eserin

Der isolierte linke Vorhof wurde bei 40°C inkubiert und mit 4 Hz (2 msec Impulsdauer) gereizt. Die ACh-Konzentration wurde in 3-minütigem Abstand kumulativ erhöht: 20 Minuten nach Beendigung des 1. Durchgangs (offene Kreise) wurde eine 2. Dosis-Wirkungs-Kurve (geschlossene Kreise) in Anwesenheit von $6 \times 10^{-9}\text{g/ml}$ Eserin erstellt, wobei Eserin bereits 15 Minuten vor der 2. kumulativen Zugabe von ACh dem Bad zugegeben wurde.

Ordinate: Kontraktionskraft berechnet in g pro g Feuchtgewicht und ausgedrückt in % der Ausgangsspannung

(1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $2,0 \pm 1,1 \text{ g/g FG}$;

2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $0,7 \pm 0,3 \text{ g/g FG}$).

Abszisse: negativer Logarithmus der ACh-Konzentration (g/ml).

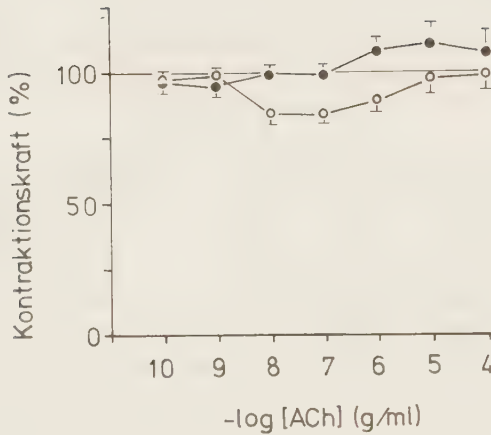


Abb. 7: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf den isolierten rechten Hühnerventrikel in Ab- und Anwesenheit von Eserin

Streifen des rechten Ventrikels wurden bei 40°C inkubiert und mit 4 Hz (2 msec Impulsdauer) gereizt. Die ACh-Konzentration wurde in 3-minütigem Abstand kumulativ erhöht: 20 Minuten nach Beendigung des 1. Durchgangs (offene Kreise) wurde eine 2. Dosis-Wirkungs-Kurve (geschlossene Kreise) in Anwesenheit von 6×10^{-9} g/ml Eserin erstellt, wobei Eserin bereits 15 Minuten vor der 2. kumulativen Zugabe von ACh dem Bad zugegeben wurde.

Ordinate: Kontraktionskraft, berechnet in g pro g Feuchtgewicht und ausgedrückt in % der Ausgangsspannung

(1. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $3,4 \pm 1,3$ g/g FG;

2. ACh-Dosis-Wirkungs-Kurve: $2,7 \pm 1,0$ g/g FG).

Abszisse: negativer Logarithmus der ACh-Konzentration.

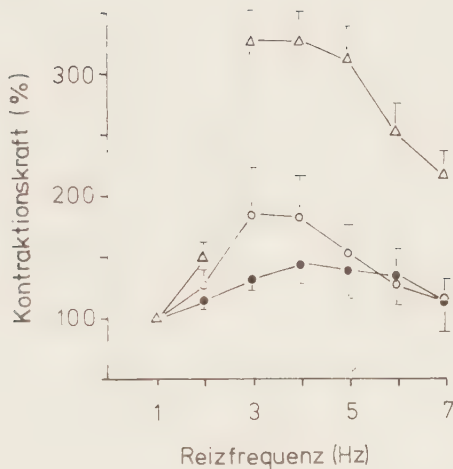


Abb. 8: Der Einfluß der Reizfrequenz auf die Kontraktionskraft von isolierten Muskelstreifen des rechten Ventrikels bei verschiedenen Spezies

Die Kontraktionen von Ventrikelstreifen des Huhns (offene Dreiecke, $n = 15$, Inkubationstemperatur 40°C), des Kaninchens (geschlossene Kreise, $n = 4$, Inkubationstemperatur 36°C) und des Meerschweinchen (offene Kreise, $n = 4$, Inkubationstemperatur 36°C) wurden vorwiegend isometrisch registriert. Ordinate: Kontraktionskraft in % der Kraftentwicklung bei Reizung mit 1 Hz.

Abszisse: Reizfrequenz in Hz. Diese wurden den Schlagfrequenzen des perfundierten Hühnerherzens angeglichen (1 bis 7 Hz entspricht 60 bis 420 Schlägen pro Minute).

Angegeben sind Mittelwerte $\pm$ mittlerem Fehler des Mittelwertes aus einer Anzahl von n Versuchen.

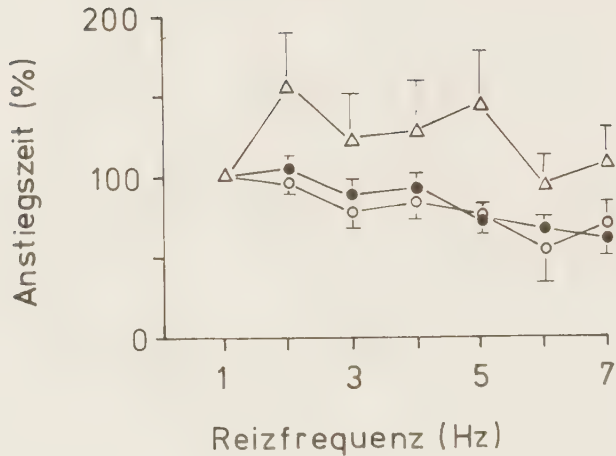


Abb. 9: Der Einfluß der Reizfrequenz auf die Anstiegszeit der Kontraktion von isolierten Muskelstreifen des rechten Ventrikels bei verschiedenen Spezies

Die Kontraktionen von Ventrikelstreifen des Huhns (offene Dreiecke, $n = 15$, Inkubationstemperatur 40°C), des Kaninchens (geschlossene Kreise, $n' = 4$, Inkubationstemperatur 36°C) und des Meerschweinchens (offene Kreise, $n = 4$, Inkubationstemperatur 36°C) wurden vorwiegend isometrisch registriert. Ordinate: Anstiegszeit in % der Anstiegszeit bei Reizung mit 1 Hz.

Abszisse: Reizfrequenz in Hz. Diese wurden den Schlagfrequenzen des perfundierten Hühnerherzens angeglichen (1 bis 7 Hz entsprechen 60 bis 420 Schlägen pro Minute).

Angegeben sind Mittelwerte + mittlerem Fehler des Mittelwertes aus einer Anzahl von n Versuchen.

Die Anstiegszeit der Kontraktion des Hühnerventrikels betrug bei Erhöhung der Reizfrequenz von 1 auf 2 Hz $157 \pm 33\%$ ($0,08 \pm 0,00$ sec). Bei höheren Frequenzen (6 bis 7 Hz) ergab sich keine signifikante Veränderung der Anstiegszeit ($94 \pm 18\%$).

Zusammenfassend wäre zu bemerken, daß beim Hühnerventrikel die auffällige frequenzabhängige Steigerung der Kontraktionskraft teilweise aus einer Verlängerung der Anstiegszeit hervorgeht. Bei Meerschweinchen und Kaninchen dagegen ging ein weitaus geringgradigerer Anstieg der Kontraktionskraft mit einer Verkürzung der Anstiegszeit einher.

Die Anstiegsgeschwindigkeit (Abb. 10) stand diesen beiden Parametern anders gegenüber. Sie wurde bei allen drei Spezies zwar gesteigert, doch am auffälligsten beim Meerschweinchen mit einem Maximum bei 4 Hz ($399 \pm 110\%$, $n = 4$) (siehe auch perfundiertes Herz: Vagusreizung).

Das Hühnerherz nahm eine Mittelstellung ein. Der Höhepunkt lag ebenfalls bei 4 Hz, betrug jedoch nur $305 \pm 44\%$ ($n = 15$) (bezogen auf die Anstiegsgeschwindigkeit bei 1 Hz = 100%). Beim Kaninchen erreichte die Anstiegsgeschwindigkeit erst bei 6 Hz ihr Maximum ($226 \pm 58\%$). Bei einer zusammenfassenden Betrachtung der Wirkung der Reizfrequenz auf den rechten Ventrikel des Hühnerherzens (Abb. 11) sieht man Folgendes:

Im Bereich zwischen 1 und 2 Hz verhalten sich Kontraktionskraft, Anstiegszeit und Anstiegsgeschwindigkeit gleichsinnig, d.h. sie steigen um ungefähr die Hälfte des Ausgangswertes. Dann, zwischen 2 und 3 Hz, hatten die Kurven der Anstiegsgeschwindigkeit und der der Kontraktionskraft die größte Steilheit. Die Maxima waren mit 3 Hz (Anstiegsgeschwindigkeit) und 4 Hz (Kontraktionskraft) erreicht.

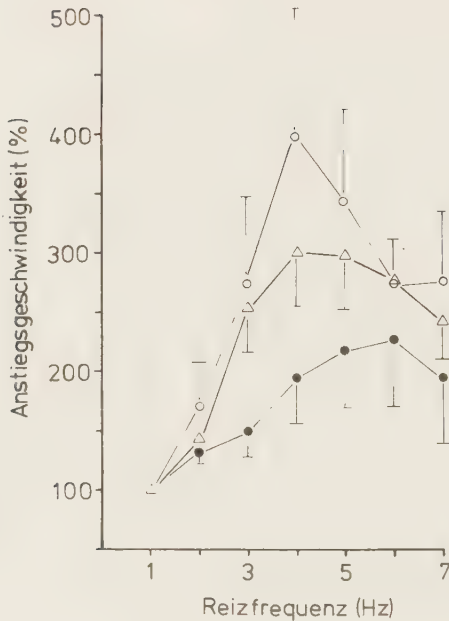


Abb. 1c: Der Einfluß der Reizfrequenz auf die Anstiegsgeschwindigkeit der Kontraktion von isolierten Muskelstreifen des rechten Ventrikels bei verschiedenen Spezies

Die Kontraktionen von Ventrikelstreifen des Huhns (offene Dreiecke, $n = 15$, Inkubationstemperatur 40°C), des Kaninchens (geschlossene Kreise, $n = 4$, Inkubationstemperatur 36°C) und des Meerschweinchens (offene Kreise, $n = 4$, Inkubationstemperatur 36°C) wurden vorwiegend isometrisch registriert. Ordinate: Anstiegsgeschwindigkeit in % der Anstiegsgeschwindigkeit bei Reizung mit 1 Hz.

Abszisse: Reizfrequenz in Hz. Diese wurden den Schlagfrequenzen des perfundierten Hühnerherzens angeglichen (1 bis 7 Hz entsprechen 60 bis 420 Schlägen pro Minute).

Angegeben sind Mittelwerte + mittlerem Fehler des Mittelwertes aus einer Anzahl von n Versuchen.

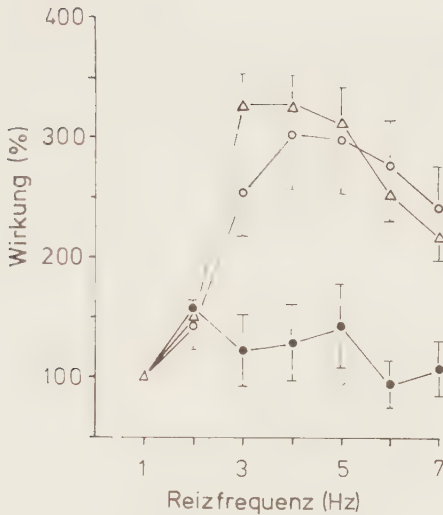


Abb. 11: Der Einfluß der Reizfrequenz auf Kraft, Anstiegszeit und Anstiegsgeschwindigkeit der Kontraktion des isolierten rechten Hühnerventrikels

Dargestellt sind die Änderungen der Kraft (offene Kreise, $n = 15$), der Anstiegszeit (gefüllte Kreise, $n = 14$) und der Anstiegsgeschwindigkeit (offene Dreiecke, $n = 15$) der Kontraktionen isolierter, inkubierter Ventrikelstreifen bei 40°C Inkubationstemperatur.

Ordinate: Wirkungen in % der Werte bei Reizung mit 1 Hz.

Abszisse: Reizfrequenz in Hz. Diese wurden den Schlagfrequenzen des perfundierten Hühnerherzens angeglichen (1 bis 7 Hz entsprechen 60 bis 420 Schlägen pro Minute).

Dargestellt sind Mittelwerte + mittlerem Fehler des Mittelwertes aus einer Anzahl von n Versuchen.

Die Abhängigkeit der Kontraktion des rechten Hühnerventrikels von der Reizfrequenz in Anwesenheit einer Atropinkonzentration von 10^{-7}M

In 5 Versuchen, in welchen Atropin 10^{-7}M ($2,9 \times 10^{-8} \text{ g/ml}$) der Bad-Lösung zugesetzt wurde, blieb die Abhängigkeit der Kontraktionskraft von der Reizfrequenz unbeeinflußt (Unterschied auf dem 5%-Niveau nicht signifikant).

D. DISKUSSION

a) Die parasympathische Innervation des Hühnerherzens

Nicht nur die Vorhöfe, sondern auch die Ventrikel des Hühnerherzens sind dicht cholinerg innerviert. Dies konnte durch histologische Befunde und den histochemischen Nachweis von Cholinesterase und Acetylcholinesterase dargelegt werden (Gossrau, 1968; Kissling et al., 1972; Bolton 1976). Das nicht-spezifische Myokard des Hühnerventrikels ist im Gegensatz zu dem der Säugetiere nur schwach cholinerg innerviert (Burnstock, 1969; Bolton, 1976; Tscheng, 1950; Higgings et al., 1973). Da extra-neural keine Cholinacetyltransferase nachgewiesen werden konnte, wurde gefolgert, daß Acetylcholin vorwiegend in intramyocardialen Nervenfasern synthetisiert wird (Roskoski et al., 1977, in Druck; Kissling et al., 1972). Der Gehalt an Acetylcholin und die Cholinesteraseaktivität waren im Ventrikel des Hühnerherzens signifikant höher als im Kaninchenventrikel (Kilbinger und Löffelholz, 1976). Im Hühnerherzen war die Acetylcholinabgabe durch Vagusreizung viel höher als in Säugetierherzen (Katze, Meerschweinchen, Kaninchen) (Kilbinger und Löffelholz, 1976; Dieterich et al., 1977). Der Acetylcholingehalt und die Aktivitäten der Cholinesterasen pro Gewebeeinheit des Hühnervorhofs waren nur etwa doppelt so hoch wie die der Ventrikel, während im Kaninchenventrikel der Acetylcholingehalt nur ein Fünftel und die Cholinesteraseaktivität nur ein Drittel der entsprechenden Werte im Vorhof betrug (Kilbinger und Löffelholz, 1976). Ein ähnliches Verhältnis zwischen Vorhof- und Ventrikel-Cholinesterase des Kaninchenherzens fand auch Engelhardt (1930).

b) Die parasympathische Regulation der Schrittmacheraktivität

Vagusreizung und Acetylcholin (10^{-6} M = $1,8 \times 10^{-7}$ g/ml) übten auf den perfundierten Hühnerventrikel einen im Vergleich zur negativ chronotropen Wirkung starken negativ inotropen Effekt aus (vorliegende Arbeit; Dieterich, 1975; Dieterich et al., 1976). Diese Beobachtung wurde auf den kürzlich gefundenen, besonders hohen Acetylcholingehalt und die Acetylcholinabgabe zurückgeführt (Kilbinger und Löffelholz, 1976; Dieterich et al., 1977) und auf eine mögliche funktionelle cholinerge Innervation der Ventrikel (Bolton, 1977). Übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, bei denen sich die Frequenz bei Vagusreizung mit 20 Hz

auf 74% des Kontrollwertes verminderte, zeigte sich nach Vagotomie beim Hühnerherzen ein Frequenzanstieg von 20-21% (Johansen und Reite, 1964). Tummons und Sturkie (1969) erhielten bei Hausenten und Seemöven nach Vagotomie einen Frequenzanstieg um 65%. Dementsprechend bewirkte bei tauchenden Enten die reflektorisch durch Vagusreizung verminderte Frequenz eine Abnahme der Kontraktionskraft der Ventrikel um mehr als die Hälfte (Folkow et al., 1966; Folkow und Yonce, 1967). Der Unterschied konnte dadurch erklärt werden, daß auf Vögel mit großen, kräftig entwickelten Herzen (Taube, Ente, Möve) der Vagus einen viel stärkeren Einfluß ausübt als bei Vögeln mit eher schwach entwickelten Herzen (Huhn, Krähe, Dohle) (Stübel, 1910). Andererseits sei erwähnt, daß die durch Vagusreizung bedingte Acetylcholinabgabe aus dem isolierten Hühnerherzen ungefähr 1,7 mal größer war als die Abgabe aus dem Herzen der Taube und sogar rund 16,7 mal größer als die Abgabe aus dem Entenherzen (Dieterich et al., 1977). Demgemäß gelang es einigen Autoren (Furnival et al., 1973; Kissling et al., 1969) nur nach intensiver und langdauernder Vagusreizung einen vernachlässigbar geringen negativ inotropen Effekt am Hundeventrikel im Gegensatz zu dem der Kröte hervorzurufen, und sie kamen in Übereinstimmung mit Gerling (1966) und Furnival et al., (1968) zu der Annahme, daß unter physiologischen Bedingungen die Kontraktilitätsbeeinflussung der Ventrikel durch den Vagusnerven keine wesentliche Bedeutung besitzt; sie meinten, es handle sich möglicherweise um den Rest einer bei niederen Wirbeltieren ausgeprägten, aber in phylogenetischer Evolution abgebauten Funktion (siehe auch Versuche am Frosch, Bauereisen, 1941). Viele Autoren jedoch wiesen auch am Säugerherzen (Öbrink und Essex, 1953, Eliakim et al., 1961; DeGeest et al., 1964; Levy und Zieske, 1969) negativ ino- und chronotrope Effekte der Ventrikel durch Vagusreizung nach. Auch in der vorliegenden Arbeit zeigten sich sowohl nach Vagusreizung als auch nach Acetylcholininfusion bei Hühnern wie bei Säugern (Kaninchen, Meerschweinchen) negativ inotrope und negativ chronotrope Effekte. Ferner zeigte sich, daß unter Versuchsbedingungen, die bei allen drei Spezies eine gleich starke Abnahme der Kontraktionskraft durch Vagusreizung bewirkte, die Schlagfrequenz des Hühnerherzens weit geringer abnahm als die der Meerschweinchen- und Kaninchenherzen. Dieser Befund läßt sich nicht mit der aufgrund morphologischer und histologischer Befunde begründeten Annahme einer dichten cholinergen Innervation des Ventrikels des Huhns (siehe a) vereinbaren. Wie aber die Diskussion noch zeigen wird, kommt die vorliegende Arbeit im Gegensatz zu dieser Deutung zu der Schlußfolgerung, daß die relativ starken negativ inotropen Effekte am ganzen

Herzen auf einer besonders starken Abhängigkeit der Kontraktionskraft von der Frequenz ("positive Treppe") beruhen (siehe d).

Bei gleicher negativ inotroper Wirkung bewirkte Vagusreizung am Hühnerherzen, ebenso wie am Kaninchenherzen und Meerschweinchenherzen, eine stärkere Abnahme der Frequenz als Acetylcholin. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Levy und Zieske (1969) am Hundeherzen überein.

Bei vergleichender Betrachtung der Acetylcholinwirkung auf isolierte Vorhöfe verschiedener Spezies (Tab. 3) zeigten die Versuchsergebnisse der zitierten Autoren nicht, daß grobe quantitative Unterschiede, bezüglich der Wirkung von Acetylcholin auf die Kontraktionskraft der Vorhöfe von Huhn, Meerschweinchen und Kaninchen existieren.

c) Die negativ inotrope Wirkung von Acetylcholin in Vorhöfen und im rechten Ventrikel des Herzens

Versuche an isolierten Vorhöfen: An den Vorhöfen aller bisher untersuchten Spezies besitzt Acetylcholin eindeutig negativ inotrope Effekte, wohingegen keine einheitliche Meinung über eine solche Wirkung auf den Ventrikel herrscht (Higgins et al., 1973).

Das isolierte Vorhofpräparat des Froschherzens war bei konstanter Kontraktionsfrequenz 10- bis 100-fach empfindlicher als der Kammerstreifen (Schmidt, 1958). Am Papillarmuskel des Hundeherzens konnten die Kontraktionen erst durch eine 10^4 - bis 10^5 -fach höhere Acetylcholinkonzentration als am Vorhof vermindert werden (Schmidt, 1958). Dabei änderten sich Ruhe- und Aktionspotential des Ventrikels im Gegensatz zu dem des Vorhofs nicht (Schmidt, 1958; Cranefield und Hoffman, 1958; Webb und Hollander, 1956). Acetylcholin verminderte die Kontraktionskraft des Säugervorhofs etwa gleich stark wie die des Hühnervorhofs, wie aus Tabelle 3 hervorgeht. Am Rattenvorhof reduzierte Acetylcholin ($8 \times 10^{-7} \text{ M} = 1,4 \times 10^{-7} \text{ g/ml}$) die Kontraktionskraft um 48%; diese Empfindlichkeit gegenüber Acetylcholin konnte durch Eserin ($10^{-4} \text{ M} = 3,24 \times 10^{-5} \text{ g/ml}$) um das Hundertfache gesteigert werden. Eserin allein produzierte schon eine leichte Depression der Vorhofkontraktionen, wahrscheinlich infolge spontan freigesetzten Acetylcholins (Webb und Hollander, 1956).

Tab. 3: Die negativ inotrope Wirkung von Acetylcholin (ACh)
an isolierten Vorhöfen verschiedener Spezies

Spezies	Acetylcholin ($\times 10^{-8}$ M)	Verminderung der Kontraktionskraft %	Autoren
Huhn	55	- 25	vorliegende Arbeit
	120	- 50	
	300	- 80	
Meer- schwein- chen	3	- 25	Bieger et al (1968)
	5,5	- 50	" "
	120	- 80	" "
	55	- 90	Furchgott et al. (1958 und 1960)
Kaninchen	6	- 50	Webb (1950)
	25	- 50	Lindmar et al. (1968)
	55	- 39	Tibbs und Berman (1960)
	165	- 52	" "
	550	- 63	" "
	167	- 53	West et al. (1953)
	90	- 42	" "

Versuche an isolierten Ventrikelpräparaten: Die Kontraktionskraft isolierter Ventrikel von Taubenherzen, kultivierter Zellen aus Ventrikeln von Hühnerherzen (Garrey, 1937) und isolierter Ventrikel des Schildkrötenherzens (Garrey und Chastain, 1937; Hiatt und Garrey, 1943) wurden durch Acetylcholin, selbst nach Vorbehandlung mit Eserin, nicht reduziert; dagegen wurden die Aktionen des isolierten Froschventrikels (Garrey und Gordon, 1937) verringert.

Andererseits berichtete T.B. Bolton (1967), daß Acetylcholin in Konzentrationen von 1 bis 2×10^{-7} g/ml (5×10^{-7} bis 10^{-6} M) die Kontraktionskraft des Hühnerventrikels um 60 bis 70% verringerte. Beim Säugetier nahm die Kontraktionskraft der Ventrikelstreifen erst bei einer Acetylcholinkonzentration von 10^{-4} g/ml ($5,5 \times 10^{-4}$ M) um die Hälfte ab. Da sowohl die durch Feldstimulation als auch durch Acetylcholininfusion hervorgerufenen negativ inotropen Effekte am Hühnerventrikel durch Atropin 10^{-7} g /ml ($3,5 \times 10^{-7}$ M) und Hyoscin 2×10^{-8} g/ml ($6,9 \times 10^{-8}$ M) aufgehoben werden konnten, schloß T.B. Bolton daraus, daß die Ventrikel des Huhns nicht nur dicht cholinerg innerviert, sondern auch besonders empfindlich gegenüber Acetylcholin sind. Am Ventrikel des Taubenherzens wurde nach Acetylcholin sogar eine noch stärkere Abnahme der Kontraktionskraft gesehen (Bolton und Raper, 1966; Bolton, 1967; Meesler und Hardman, 1967). Auch Kissling et al. (1972) stellten fest, daß sich die Kontraktionskraft des Hühnerventrikels im Gegensatz zu der des Katzenventrikels durch Freisetzung von Acetylcholin verminderte; die Verminderung (um 14%) fiel allerdings verglichen mit Bolton's Ergebnissen (Verminderung um 60%) sehr viel geringer aus. Die beobachteten Speziesunterschiede können damit erklärt werden, daß sich die parasympathische Innervation der Kammermuskulatur während der phylogenetischen Evolution zurückbildete. Bei niederen Wirbeltieren (Frosch, Kröte, Schildkröte) wurde eine Kontraktilitätsminderung der Kammermuskulatur durch Acetylcholin und Vagusreizung hervorgerufen (Bauereisen, 1941; Garrey, 1937; Spadolini, 1949, Baumann et al., 1960). Bei Baumann et al., (1960) reagierten die Kontraktionen des isolierten, gereizten Hühnerherzens auf Acetylcholin nur wenig: Acetylcholin in Konzentrationen von $1,8 \times 10^{-6}$ bis $1,8 \times 10^{-4}$ g/ml (10^{-5} bis 10^{-3} M) hatte sogar einen in der Regel positiv inotropen Effekt auf den Ventrikel, der sich in der vorliegenden Arbeit bei Anwesenheit von Eserin als Steigerung der Kontraktionskraft um 15% des Ausgangswertes zeigte (Abb. 7). Positiv inotrope Effekte von Acetylcholin wurden

auch für Ventrikel von Säugetierherzen geschildert (Endoh et al., 1961). Auf Feldreizung der intramuralen Nerven (Impulse mit niedriger Stromstärke erregen nur die Nerven, nicht die Muskelzellen) antworteten isolierte, gereizte Ventrikelstreifen des Hühnerherzens mit einer Abnahme der Kontraktionskraft, wohingegen die Kontraktionskraft von Ventrikelstreifen von Säugetierherzen gesteigert wurde (Bolton, 1967). Am Papillarmuskel des Katzenherzens zeigte sich auf Feldstimulation erst nach Aufheben des sympathischen Effekts eine schwach parasymphatische Wirkung (Blinks, 1966).

Die oben geschilderten gegensätzlichen Befunde -das Hühnerherz wies eine dichte cholinerge Innervation und einen hohen Acetylcholingehalt auf- mögen als Beziehung des Huhns zu den phylogenetisch älteren Tierarten gedeutet werden. Ob das Hühnerherz sich auch in funktioneller Hinsicht wie das der Säugetiere verhält (geringe Empfindlichkeit der Ventrikel gegenüber Acetylcholin), ist, wie die dargelegten Befunde zeigen, unklar.

Versuche mit "normaler" Tyrodelösung (K^+ 2,7 mM, Ca^{2+} 1,8 mM): Unter dieser Versuchsbedingung zeigten sich die Ventrikelstreifen des Huhns ($n = 12$) wenig empfindlich gegenüber Acetylcholin. Hierbei wurde die Substanz in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-4} g/ml ($5,5 \times 10^{-10}$ bis $5,5 \times 10^{-4}$ M) oder einmalig in einer Konzentration von 10^{-6} g/ml ($5,5 \times 10^{-6}$ M) dem Inkubationsmedium zugegeben. Die Kontraktionskraft verminderte sich bei kumulativer Zugabe maximal um 18% ($n = 6$), wobei das Maximum durch 10^{-8} g/ml ($5,5 \times 10^{-8}$ M) Acetylcholin erreicht wurde. Nach nicht-kumulativer Zugabe von 10^{-6} g/ml ($5,5 \times 10^{-6}$ M) fiel die Kontraktionskraft um 10% ab. Damit konnte auch eine eventuelle Desensibilisierung gegenüber Acetylcholin durch kumulative Zugabe - wie sie sowohl für das Hühnerherz als auch für das Säugetier- und Kaltblüterherz diskutiert wurde (Rang und Ritter, 1970; Baumann et al., 1960; Furchgott et al., 1960; Webb, 1950) - ausgeschlossen werden. Desensibilisierung der Cholinorezeptoren der Schrittmacher wurde im embryonalen Hühnerherzen gefunden, die aber während der Ontogenese verloren ging (Pappano und Skowronek, 1974). Hemmung der Cholinesterase durch Eserin, dessen verstärkende Wirkung auf den negativ inotropen und chronotropen Effekt von Acetylcholin vielfach beschrieben wurde (Furchgott et al., 1960; Bolton, 1967; Webb, 1950), führte auch am Vorhof des Hühnerherzens zu einer Potenzierung der Effekte von Acetylcholin (Abb. 6), die sich aber nur bei niedriger

Konzentration von Acetylcholin (10^{-8} bis 10^{-7} g/ml) zeigte. Bei höheren Konzentrationen von Acetylcholin wurde sogar eine Abschwächung der Wirkung gesehen (Abb. 6), die vermutlich durch die bekannte atropinartige Wirkung von Eserin zustande kam (Quilliams und Ströng, 1949; Tedeschi, 1954). Majcen und Brzin (1975) konnten vielleicht aus letzterem Grund an verschiedenen Präparaten des Froschherzens eine Steigerung des negativ ino- und chronotropen Effektes von Acetylcholin durch Eserin in relativ hohen Konzentrationen (10^{-5} bis 10^{-4} M) nachweisen. Bei Versuchen am Ventrikelstreifen des Hühnerherzens (Abb. 7) und am perfundierten Hühnerherzen (Dieterich, 1975) wurde sogar die negative Wirkung von Acetylcholin durch Eserin aufgehoben.

Versuche mit erhöhtem K^+/Ca^{2+} -Gehalt (4,4 / 2,7 mM): Bei Inkubation von 8 Ventrikelstreifen in einer Tyrodelösung mit verändertem K^+/Ca^{2+} -Gehalt (4,4 / 2,7 mM) wurden überraschenderweise in 4 Versuchen ausgeprägte negativ inotrope Wirkungen von Acetylcholin (Verminderung um 60% der Ausgangslage) auf den Ventrikelstreifen des Hühnerherzens beobachtet (Abb. 3). Diese Ergebnisse stimmten mit denen von T.B. Bolton (1967) (Verminderung um 60 bis 70% der Ausgangslage) überein.

Der Grund dafür, daß in der Hälfte dieser Versuche die Verminderung der Kontraktionskraft nur etwa 15% betrug, ist unbekannt. Die Ergebnisse zeigen gewisse Parallelen zu Beobachtungen am Froschherzen. Boyd und Pathak (1965) entdeckten am Froschherzen eine saisonbedingte Empfindlichkeit gegenüber Acetylcholin, die sie mit dem Geschlechtszyklus der Frösche in Verbindung brachten. Innerhalb dieses daraufhin untersuchten Kollektivs zeigten sich nur einige Froschherzen auffällig empfindlich gegenüber geringen Acetylcholindosen (10^{-15} g/ml).

d) Analyse der negativ inotropen Wirkung von Vagusreizung auf das perfundierte Hühnerherz

Abraham und Stammer (1957) erkannten, daß die Wirkung des Nervus Vagus auf das Vogelherz weniger ausgeprägt ist als bei den anderen Vertebraten.

In den Versuchen der vorliegenden Arbeit verminderten Vagusreizung (20 Hz) und exogenes Acetylcholin $1,8 \times 10^{-7}$ g/ml (10^{-6} M) die Frequenz des Hühnerherzens signifikant weniger als die des Kaninchen- und Meerschweinchenherzens, wohingegen die Kontraktionsamplitude bei allen drei Spezies gleich stark zurückging. Der trotz der geringen Frequenzabnahme ausgeprägte Rückgang der Kontraktionskraft des Hühnerventrikels wurde von Dieterich et al. (1976) auf den von Bolton (1967) beschriebenen (siehe oben) starken negativ inotropen Effekt von Acetylcholin zurückgeführt. Der Rückgang der Kontraktionsamplitude könnte aber auch durch das "Treppenphänomen", d.h. die rein physikalische Abhängigkeit der Kontraktionskraft von der Frequenz bedingt sein, wie sie bei vielen Spezies in verschiedenen Herzabschnitten bewiesen und zu erklären versucht wurde. Schreiner et al. (1957) konnten am Hundeventrikel in situ unter Konstanthaltung der Frequenz keine Minderung der Kontraktionskraft nach Vagusreizung erhalten. Auch am isolierten Meerschweinchenherzen, an welchem durch Acetylcholin (10^{-5} M) mit in dieser Arbeit vergleichbaren Versuchsergebnissen negativ inotrope (Verminderung um 50%) und negativ chronotrope (Verminderung um 73%) Effekte erhalten wurden, wurde keine Verminderung der Amplitude durch Acetylcholin bewirkt, wenn die Herzen elektrisch gereizt wurden (Vincent und Ellis, 1962). Die Existenz einer Abhängigkeit der Kontraktionskraft von der Frequenz wurde durch Bowditch (1871) bekannt. Er beobachtete am Froschherzen mit steigender Reizfrequenz eine Zunahme der Kontraktionskraft und nannte dieses Phänomen "Treppe". Nach den Überlegungen von Blinks und Koch-Weser (1961) und Koch-Weser und Blinks (1963) resultieren frequenzabhängige Änderungen in der Herzkontraktilität aus Änderungen in der Dauer des aktiven Zustandes und des Aktivationsgrades des Muskels. Die Kontraktionskraft sollte sich aus drei Faktoren zusammensetzen: dem Grad der Ruhekontraktion, einem kumulierten negativ inotropen Effekt und einem kumulierten positiv inotropen Effekt. Mit zunehmender Frequenz stieg die Kontraktionskraft infolge eines Überwiegens des positiv inotropen Effektes bis

zu einem Maximum, wonach sie durch Überwiegen des kumulierten negativ inotropen Effektes infolge jetzt verkürzter Dauer des aktiven Zustands abfiel (Blinks und Koch-Weser, 1961; und Koch-Weser und Blinks, 1963). Dieser Treppeneffekt konnte an verschiedenen Tierarten nachvollzogen werden. Eine positive, d.h. mit zunehmender Frequenz ansteigende Treppe wurde sowohl an Säugern (Rosin und Farah, 1955; Edman und Johansson, 1976; Furchgott et al., 1960; Scriabine, 1958; Sanyal und Saunders, 1958; Chiba, 1976; Brady et al., 1960; Lendrum et al., 1960; Tuttle und Farah, 1962) als auch an Amphibien (Bowditch, 1871; Dale, 1932; Spadolini, 1949; Hadju, 1951; Hadju und Szent-Györgyi, 1952; Katzung und Farah, 1956) gesehen. Ausschließlich eine negative, also mit steigender Frequenz abfallende Treppe wurde bei Versuchen am Rattenherzen (McDowall, 1955; Benforado, 1958) erhalten. Aufgehoben wurde der Treppeneffekt durch Herzglykoside (Furchgott und Sleator, 1954) und Erniedrigung der Temperatur und des Kaliumgehaltes der Nährlösung (Hadju und Szent-Györgyi, 1952). Katzung und Farah (1956) erhielten bei Temperaturniedrigung eine Umkehr der Treppe ins Negative. Spadolini (1949) konnte am Ventrikel der Kröte die je nach Frequenz positiv oder negativ inotropen Effekte durch adäquate Atropindosen aufheben und vermutete deshalb durch Stimulation freigesetztes Acetylcholin als Grund der Kontraktilitätsminderung. Am Hundeventrikel dagegen blieb die Vermehrung oder Verminderung der Kontraktionskraft während Stimulation mit hohen Frequenzen durch Atropin und Propranolol unbeeinflusst. Lendrum et al. (1960) reizten den isovolumetrisch in situ sich kontrahierenden Ventrikel des Hundes und kamen dabei zu der Überzeugung, daß die Herzfrequenz an sich wichtiger sei für die Kontraktion als die Art der Ventrikelstimulation. Ähnliches dürfte auch für die Steigerung der Kontraktionskraft nach einem Einzelreiz - oft gefolgt von einer kompensatorischen Pause (Rosin und Farah, 1955; Hoffman et al., 1956; McWilliam, 1888; Brady et al., 1960) - gelten. Die erstgenannten Autoren sahen nämlich an Kaninchenvorhöfen im Anschluß an einige irreguläre Schläge eine Potenzierung der nachfolgenden Schläge. Damit konnte gleichzeitig ausgeschlossen werden, daß für den die Kontraktionskraft potenzierenden Effekt die künstliche Reizung verantwortlich wäre. Auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden "Treppen" von Huhn, Kaninchen und Meerschweinchen untersucht, d.h. die Ventrikelstreifen wurden schrittweise mit Frequenzen von 1 bis 7 Hz

gereizt. Dieser Frequenzbereich wurde dem der spontanen und reduzierten Schlagfrequenz der Herzpräparate (Ruhefrequenz 150 Schläge/Minute) angepaßt. Das Huhn zeigte eine auffällig ausgeprägte "positive Treppe" im Vergleich zu den beiden Säugern. Die maximal erreichte Steigerung der Kontraktionskraft lag beim Huhn um ca. 157% höher als beim Meer-schweinchen und um 183% höher als beim Kaninchen. Diese beim Hühnerherzen so viel auffälligere Vergrößerung der Kontraktionskraft läßt sich einmal darauf zurückführen, daß die Anstiegszeit, d.h. die Zeit, die bis zum Erreichen der maximalen Spannungsentwicklung notwendig ist, beim Huhn über alle Frequenzen verlängert war, während sich beim Säuger sogar eine geringgradige Verkürzung zeigte. Denn Änderungen in der Anstiegszeit und der Gesamtdauer der Kontraktion reflektieren Änderungen in der Dauer des aktiven Zustandes. Wenn die Dauer des aktiven Zustandes nicht lang genug ist, um eine Verkürzung der kontraktile Elemente zu erlauben, werden Änderungen in der Dauer dieses Zustandes immer das Ausmaß der Kontraktion beeinflussen (Koch-Weser und Blinks, 1963). Beim Ventrikel des Säugers - noch mehr aber beim Vorhof - spielen frequenzabhängige Änderungen in der Dauer des aktiven Zustandes keine so wichtige Rolle, außer bei besonders hohen Frequenzen. In den Ventrikeln phylogenetisch älterer Tiere aber, z.B. im Frosch und anderen poikilothermen Tieren, sind Wechsel in der Dauer des aktiven Zustandes hinsichtlich der Beziehung zwischen Frequenz und Kontraktionskraft von großer Bedeutung (Koch-Weser und Blinks, 1963). Diese Anhängigkeit der Kontraktionskraft von Änderungen in der Frequenz wurde in besonderem Maße am Hühnerventrikel deutlich und könnte eine Erklärung erstens für die Verminderung der Kontraktionskraft am Ventrikel nach Vagusreizung und Acetylcholineinwirkung auf das ganze isolierte Herz, und zweitens für das, trotz des hohen Acetylcholingehalts des Herzens, ausgesprochen geringe Ansprechen des isolierten Ventrikels auf exogen zugeführtes Acetylcholin sein. Es wird daher gefolgert, daß der starke negativ inotrope Effekt auf den Ventrikel des ganzen perfundierten Hühnerherzens während Vagusreizung und nach Zugabe von exogenem Acetylcholin im wesentlichen durch einen negativ chronotropen Effekt auf den Schrittmacher vermittelt wurde (Tab. 4). Auf isolierte, von Vorhof- und Schrittmachergewebe befreite Ventrikel konnte durch Acetylcholin nur eine geringe Verminderung der Kontraktionskraft reproduzierbar dargestellt werden. In diesen Versuchen konnte der Treppeneffekt nicht in

Kraft treten, da die Ventrikelstreifen mit einer konstanten, vorgegebenen Frequenz gereizt wurden. Die "Treppe" ist also eine Erklärung für den negativ inotropen Effekt von Vagusreizung und Acetylcholin auf den Ventrikel des perfundierten Hühnerherzens und scheint eine gewichtige Alternative für die Hypothese (siehe c) zu sein, wonach die Ventrikelmuskulatur dieser Spezies gegenüber Acetylcholin direkt und besonders empfindlich ist.

Tab. 4: Die Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf Frequenz und Kontraktionsamplitude des Hühnerherzens

	n	vor Acetylcholin	Acetylcholin	
	n	Frequenz (Schläge/min)	Frequenz (in % der Kontrolle)	Amplitude
Rechter Vorhof	6	181 $\pm$ 17	70 $\pm$ 16	34 $\pm$ 5
Perfundiertes Herz	4	160 $\pm$ 26	74 $\pm$ 9	48 $\pm$ 12

Dargestellt sind die Wirkungen von ACh auf den isolierten spontan schlagenden rechten Vorhof (Temperatur 40°C; die Ergebnisse mit $5,5 \times 10^{-6}M$ ACh sind in den Abb.4 und 5 dargestellten Dosis-Wirkungs-Kurven entnommen) und auf das perfundierte Herz (Temperatur 36°C, Zugabe einer Einzeldosis von ACh $1,8 \times 10^{-7}$ g/ml ($10^{-6}M$)). Angegeben sind Mittelwerte $\pm$ mittlerem Fehler des Mittelwertes aus einer Anzahl von n Versuchen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die chronotropen und inotropen Wirkungen von Acetylcholin ($5,5 \times 10^{-6}$ g/ml) und Reizung beider Nn. Vagi (20 Hz) wurden am perfundierten Herzen des Huhns, Kaninchens und Meerschweinchens untersucht. Ferner wurde die negativ inotrope bzw. chronotrope Wirkung von Acetylcholin in kumulativen Dosis-Wirkungs-Kurven an elektrisch gereizten linken und spontan schlagenden rechten Vorhöfen und an Streifenpräparaten des rechten Ventrikels des Hühnerherzens erfaßt. - Die Beziehung zwischen Schlagfrequenz (1 bis 7 Hz) und Kontraktionskraft wurde an elektrisch gereizten Ventrikelstreifen ermittelt.
2. Vagusreizung und Acetylcholin verminderten die Schlagfrequenz der perfundierten Hühnerherzen weniger als die der Meerschweinchen- und Kaninchenherzen, wohingegen die Kontraktionskraft bei allen drei Spezies in gleichem Maße reduziert wurde.
3. Diese relativ zur negativ chronotropen Wirkung starke Abnahme der Kontraktionskraft des Hühnerherzens mußte nicht unbedingt auf einem verstärkten Ansprechen des Ventrikels auf Acetylcholin (Bolton, 1976), wie nach der dichten cholinergen Innervation des Hühnerventrikels zu erwarten wäre, beruhen, da isolierte Ventrikelstreifen gegenüber exogenem Acetylcholin nur mit einer maximal 20%-igen Abnahme der Kontraktionskraft reagierten. Allerdings wurde bei Erhöhung des K^+/Ca^{2+} -Gehaltes der Tyrodelösung eine wesentlich stärkere Abnahme (maximal um etwa 60%) beobachtet.
4. Wurden Ventrikelstreifen von Huhn, Kaninchen und Meerschweinchen mit ansteigenden Frequenzen (1 bis 7 Hz) direkt gereizt, zeigte sich am Ventrikelstreifen des Hühnerherzens eine auffällig starke direkte Abhängigkeit der Kontraktionskraft von der Frequenz ("positive Treppe").
5. Es wurde deshalb angenommen, daß die Wirkungen von exogenem Acetylcholin und von Vagusreizung auf den rechten Ventrikel im perfundierten, spontan schlagenden Hühnerherzen bei "normaler" Tyrodelösung zum größten Teil indirekt durch die negativ chronotrope Wirkung auf den Sinusknoten als "positive Treppe" und nur zum kleinen Teil durch eine direkte inotrope Wirkung auf den Ventrikel zustandekommen.

F. LITERATURVERZEICHNIS

ABRAHAM, A., A. STAMMER:

Die mikroskopische Innervation des Vogelherzens.

Acta Biol. (Szeged). 3, 247-273 (1957)

ANDERSSON, P., H. PERSSON:

Effect of acetylcholine on isolated cat and rabbit heart
ventricle preparation.

Acta Pharmacol. et Toxicol. 32, 345-352 (1973)

BAUEREISEN, E.:

Die Bedeutung der Reizfrequenz und Reizdauer für die
chronotrope Wirkung der extracardialen Nerven des Froschherzens.

Z. Biol. 100, 554 (1941)

BAUMANN, F., L. GIRADIER, J.M. POSTERNAK:

Effects inotropes de l' acétylcholine sur le myocarde.

Helv. physiol. pharmacol. Acta 18, 509-522 (1960)

BECKETT, P.R.:

The isolated perfused heart preparation: two suggested improvements.

J. Pharm. Pharmacol. 22, 818-822 (1970)

BENFORADO, J.M.:

Frequency dependent pharmacological and physiological effects
on the rat ventricle strip.

J. Pharmacol. exp. Ther. 122, 86-100 (1958)

BIEGER, D., H. LÖLLMANN, O. WASSERMANN:

Über eine akute Anti-Acetylcholinwirkung von Hemicholinum No. 3
am Vorhof des Meerschweinchens.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. exp. Path. 259, 386-393 (1968)

BLINKS, J.R., J. KOCH-WESER:

Analysis of the effects of changes in rate and rhythm upon myocardial
contractility.

J. Pharmacol. exp. Ther. 134, 373-383 (1961)

BLINKS, J.R.:

Field stimulation as means of effecting the graded release of autonomic transmitters in isolated heart muscle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 151, 221-235 (1966)

BOLTON, T.B., C. RAPER:

Innervation of the domestic fowl and guinea-pig ventricles.

J. Pharm. Pharmacol. 18, 192-193 (1966)

BOLTON, T.B.:

Intramural nerves in the ventricular myocardium of the domestic fowl and other animals.

Brit.J. Pharmacol. 31, 253-268 (1967)

BOLTON, T.B.:

Nervous system. In: Avian Physiology, third edition. Hsg. P.D. Sturkie pp. 1-28, New York, Heidelberg, Berlin: Springer (1976)

BOWDITSCH, H.P.:

Ober die Eigentümlichkeit der Reizbarkeit, welche die Muskelfasern des Herzens zeigen.

Ber. Sächs. Ges. (Akad.) Wiss. P 652-689 (1871)

BOYD, S.A., C.T. PATHAK:

The response of perfused frog heart to minute quantities of acetylcholine, and the variation in sensitivity with season.

J. Physiol 176, 191-204 (1965)

BRADY, A.S., B.C. ABBOT, W.F.H.M. MOMMAERTS:

Inotropic effects of trains of impulses applied during the contraction of the cardiac muscle.

J. Gen. Physiol. 44, 415-432 (1960)

BURNSTOCK, G.:

Evolution of the autonomic innervation of visceral and cardiovascular systems in vertebrates.

Pharmacol. Rev. 21, 247-309 (1969)

CHIBA, S.:

Effects of phenobarbital, verapamil and magesne on the frequency-force - relationship of the isolated atrium and ventricle of the dogs' heart.

Eur. J. Pharmac. 40, 225-232 (1976)

CRANEFIELD, P.F., B.F. HOFFMAN:

Electrophysiology of single cardiac cells.

Physiol. Rev. 38, 41-76 (1958)

DALE, A.S.:

The staircase phenomenon in ventricular muscle.

J. Physiol. 75, 1-16 (1932)

DeGEEST, H., M.N. LEVY, H. ZIESKE:

Negativ inotropic effect of the vagus nerves upon the canine ventricle.

Science 144, 1223-1225 (1964)

DIETERICH, H.A.:

Die gaschromatographische Bestimmung von Acetylcholin im Perfusat des isolierten Hühnerherzens.

Diplomarbeit aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz, (1975)

DIETERICH, H.A., H. KAFFEI, H. KILBINGER, K. LÜFFELHOLZ:

The effects of physostigmine on cholinesterase activity, storage and release of acetylcholine in the isolated chicken heart.

J. Pharmacol. exp. Ther. 199, 236-246 (1976)

DIETERICH, H.A., K. LÜFFELHOLZ, H. POMPETZKI:

Acetylcholine overflow from isolated perfused heart of various species in the absence of cholinesterase inhibition.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 296, 149-152 (1977)

EDMAN, K.A.P., M. JOHANSSON:

The contractile state of rabbit papillary muscle in relationship to stimulation frequency.

J. Physiol. 254, 565-581 (1976)

ELIAKIM, M., S. BELLET, E. TAWIL, O. MOLLER:

Effect of vagal stimulation and acetylcholine on the ventricle.

Circul. Res. 9, 1372-1379 (1961)

ENDO, M., K. TAMURA, K. HASHIMOTO:

Negative and positive inotropic responses of the blood-perfused canine papillary muscle to acetylcholine.

J. Pharmacol. exp. Ther. 175, 377-387 (1970)

ENGELHARDT, E.:

Über die humorale Übertragbarkeit der Herznervenwirkung.

XIII. Mitteilung. Die Vagusstoffverteilung auf Vorhof und Kammer bei Frosch und Säugern.

Pflügers Arch. 225, 721-727 (1930)

FOLKOW, B., N.J. NILSSON, L.R. YONCE:

Effect of diving on cardiac output in ducks.

Acta physiol. scand. 68, (suppl. 277), 51 (1966)

FOLKOW, B., L.R. YONCE:

The negative inotropic effect of vagal stimulation on the heart ventricles on the duck.

Acta physiol. scand. 71, 77-84 (1967)

FRIEDMAN, W.F., R.A. BUCCINO, E.H. SONNENBLICK, E. BRAUNWALD:

Effects of frequency on contraction and ionic environment on the responses of heart muscle to acetylcholine.

Circ. Res. 21, 573-582 (1967)

FURCHGOTT, R.F., W. SLEATOR:

Effects of rate of stimulation, strophanthin, epinephrine and acetylcholine on contraction force and action potential of isolated guinea-pig ventricles.

J. Pharmacol. exp. Ther. 110, 20 (1954)

FURCHGOTT, R.F., W. SLEATOR, T. DeGUBAREFF:

Effects of acetylcholine and epinephrine on the contractile strength and action potential of electrically driven guinea-pig atria.

J. Pharmacol. exp. Ther. 129, 405-416 (1960)

FURNIVAL, C.M., R.J.LINDEN, H.M. SNOW:

The response of the left ventricle to stimulation of the vagus nerves.

J. Physiol. (Lond.) 198, 25P (1968)

FURNIVAL, C.M., R.J. LINDEN, A.M. SNOW:

The inotropic effect on the heart of stimulating the vagus in the in the dog, duck and toad.

J. Physiol. 230, 55-170 (1973)

GARREY, W.E., L.L. CHASTAIN:

Acetylcholine action on the turtle heart.

Amer. J. Physiol. 119, 314-315 (1937)

GARREY, W.E.:

Action of acetylcholine cultures of chick heart.

Amer. J. Physiol. 119, 314 (1937)

GARREY, W.E., GORDON:

Effects of acetylcholine on the frog 's ventricle.

Amer. J. Physiol. 119, 314 (1937)

GARREY, W.E., L.L. CHASTAIN:

Inotropic and chronotropic effects of acetylcholine upon the chelonian heart.

Amer. J. Physiol. 119, 315 (1937)

GERLING, E.D.:

De invloed van de autonome zenuwen op de mechanische activiteit van het konijnehart.

Schrik 's Drukkerij N.V. Asten N-br. (1966)

GOSSRAU, R.:

Ober das Reizleitungssystem der Vögel.

Histochemie 13, 111-159 (1968)

GROSSMANN, R., R.F. FURCHGOTT:

The effects of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 145, 162-172 (1964)

HADJU, D.:

Mechanism of staircase and contracture in ventricular muscle.

Amer. J. Physiol. 174, 371-380 (1953)

HADJU, S., A. SZENT-GYÖRGYI:

Action of DOC and serum on the frog heart.

Amer. J. Physiol. 168, 159-170 (1952)

HIATT, E.P., W.E. GARRY:

Drug actions on the spontaneously beating turtle ventricle indicating lack of innervation.

Amer. J. Physiol. 138, 758-762 (1943)

HIGGINS, C.B., S.E. VATNER, E. BRAUNWALD:

Parasympathetic control of the heart.

Pharmacol. Rev. 25, 119-155 (1973)

HOFFMAN, B.F., E. BINDLER, E.E. SUCKLING:

Postextrasystolic potentiation of contraction in cardiac muscle.

Amer. J. Physiol. 185, 95-102 (1956)

JOHANSEN, K., O.B. REITE:

Cardiovascular responses to vagal stimulation and cardio-acceleration nerve blockade in birds.

Comp. Biochem. Physiol. 12, 479-487 (1964)

KATZUNG, B., A. FARAH:

Influence of temperature and on the contractility of isolated turtle myocardium.

Amer. J. Physiol. 184, 557-562 (1956)

KILBINGER, H., K. LÜFFELHOLZ:

The isolated perfused chicken heart as a tool for studying acetylcholine output in the absence of cholinesterase inhibition. J. Neural Transmission 38, 9-14 (1976)

KISSLING, G., R. JACOB, V. PEIPER, E. BAUEREISEN:

Inotrope Wirkungen des Nervus Vagus am Hundeventrikel in situ. Pflügers Arch. 310, 64-74 (1969)

KISSLING, G., R. JACOB, H. HUYEN-DUONG, G. SIEBER:

Negative Inotropie von endogenem Acetylcholin beim Katzen- und Hühnerventrikelmyocard. Pflügers Arch. 333, 35-50 (1972)

KOCH-WESER, J., J.R. BLINKS:

The influence of the interval between beats on myocardial contractility. Pharmacol. Rev. 15, 601-652 (1963)

KUSCHINSKY, G., R. LINDMAR, U. WOLLERT:

Kurs der allgemeinen Pharmakologie und Toxikologie
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1974)

LANGENDORFF, E.:

Untersuchungen am lebenden Säugetierherzen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 61, 291-332 (1895)

LENDRUM, B., H. FEINBERG, E. BOYD, C.N. Katz:

Rhythm effects on contractility of the beating isovolumetric left ventricle.
Amer. J. Physiol. 199, 1115-1120 (1960)

LEVY, M.N., H. ZIESKE:

Comparison of the cardiac effects of vagus nerve stimulation and of acetylcholine - infusion.
Amer. J. Physiol. 216, 890-897 (1969)

LINDMAR, R., K. LÖFFELHOLZ, E. MUSCHOLL:

A muscarinic mechanism inhibiting the release of noradrenaline from peripheral adrenergic nerve fibres by nicotinic agents.

Brit. J. Pharmacol. 32, 280-294 (1968)

MAJCEN, Z., M. BRZIN:

The inhibition of frog tissue cholinesterase and the influence of eserine and prostigmin on the action of acetylcholine on the frog heart.

Biochem. Pharmacol. 24, 1599-1602 (1975)

MCDOWALL, J.J., A.F. MUNRO, A.F. ZAYAT:

Sodium and cardiac muscle.

J. Physiol. 130, 615-624 (1955)

MCWILLIAM, J.A.:

On the rhythm of the mammalian heart.

J. Physiol. 9, 167-198 (1888)

MEESLER, W.D., H.F. HARDMAN:

Blockade of the positive inotropic action of epinephrine and theophyllin by acetylcholine.

J. Pharmacol. exp. Ther. 158, 241-247 (1967)

ØBRINK, K.J., H.E. ESSEX:

Chronotropic effects of vagal stimulation and acetylcholine on certain mammalian heart with special reference the mechanism of vagal escape.

Amer. J. Physiol. 174, 321-330 (1953)

PAPPANO, A.G., C.A. SKOWRONEK:

Reactivity of chick embryo heart to cholinergic agonists during ontogenesis: decline in desensitization at the onset of cholinergic transmission.

J. Pharmacol. exp. Ther. 191, 109-118 (1974)

QUILLIAMS, S.P., F.G. STRONG:

Some observations upon the pharmacological activity of DFP.

Brit. J. Pharmacol. 4, 1683 (1949)

RANG, H.P., J.M. RITTER:

On the mechanism of desensitization of cholinergic receptors.
Mol. Pharmacol. 6, 357-382 (1970)

ROSIN, H., A. FARAH:

Post-st-mulation potentiation of contractility in the isolated
ventricle of the rabbit.
Amer. J. Physiol. 180, 75 (1955)

ROSKOSKI, R., R.Jr. McDONALD, L.M. ROSKOSKI, W.J., MARVIN, K. HERMSMEYER:

Cholin acetyltransferase activity in heart: evidence for neuronal
and not myocardial origin.
Am. J. Physiol., im Druck (1977)

SANYAL, P.N., P.R. SAUNDERS:

Relationship between cardiac rate and the positive inotropic
action of ouabain.
J. Pharmacol. exp. Ther. 122, 499-503 (1958)

SCHMIDT, R.F.:

Über die Acetylcholinempfindlichkeit verschiedener Herzabschnitte.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 233, 531-540 (1958)

SCHREINER, L., E. BERGLUND, H.G. BORST, G.M. ROBERT:

Effects of vagus stimulation and acetylcholine on myocardial
contractility, O_2 -consumption and coronary flow in dogs.
Circ. Res. 5, 562-567 (1957)

SCRIABINE, A.:

Einfluß von Änderungen der Reizung auf die Leistung des Ratten-
papillarmuskels.
Inauguraldissertation, Pharmakologisches Institut der
Universität Mainz (1958)

SPANDOLINI, I.:

Graded responses of the isolated ventricle of the toad following
release of acetylcholine by direct stimulation of varying frequency.
J. Physiol. 109, 308-313 (1949)

STOBEL, H.S.:

Beiträge zur Kenntnis der Physiologie des Blutkreislaufs bei verschiedenen Vogelarten.

Pflügers Arch. 229, 492-537 (1910)

STURKIE, P.D.:

Heart: contraction, conduction, and electrocardiography.

In: Avian Physiology, third edition, Hsg. P.D. Sturkie, pp 102-121
New York, Heidelberg, Berlin: Springer (1976)

TEDESCHI, R.E.:

Atropinelike activity of some anticholinesterases on the rabbit atria.

Brit. J. Pharmacol. 9, 367 (1954)

TIBBS, W.J., A.A. BERMAN:

The inotropic and chronotropic action of acetylcholine on rabbit atria suspended in sodium deficient media.

J. Pharmacol. exp. Ther. 128, 344-348 (1960)

TSCHENG, K.T.:

Innervation of the dog's heart.

Amer. Heart. J. 41, 512-524 (1950)

TUMMONS, L.J., P.D. STURKIE:

Nervous control of heart rate during excitement in the adult white leghorn cock.

Amer. J. Physiol. 216, 1437-1440 (1969)

TUTTLE, R.S., A. FARAH:

The effect of ouabain on the frequency-force-relation and on post-stimulation potentiation in isolated atrial - and ventricular muscle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 135, 142-150 (1962)

VINCENT, N.A., S. ELLIS:

Inhibitory effect of acetylcholine on glycogenolysis in the isolated guinea-pig heart.

J. Pharmacol. exp. Ther. 139, 60-68 (1962)

WEBB, L.J.:

The action of acetylcholine on the rabbit auricle.

Brit. J. Pharmacol. 5, 335-375 (1950)

WEBB, L.J., R.B. HOLLANDER:

The action of acetylcholine and epinephrine on the cellular membrane potentials and contractility of the rat atrium.

Circ. Res. 4, 332-336 (1956)

WEST, T.C., L.D. TURNER, T.A. LOOMIS:

Effects of acetylcholine on mechanical and electrical properties of isolated rabbit auricles: their relationship to the genesis of arrhythmias.

J. Pharmacol. exp. Ther. 111, 475-482 (1953)

Lebenslauf

Am 29. Juni 1953 wurde ich als erstes von drei Kindern des Diplomingeneurs Leo Letschert und der Augenärztin Dr. med. Annemarie Letschert, geb. Scheuerl in Koblenz geboren. Eingeschult wurde ich 1959. Nach den vier Grundschuljahren besuchte ich das Staatliche Görres-Gymnasium in Koblenz. Dort legte ich im Mai 1971 die humanistische Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1971/72 begann ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz mit dem Studium der Biologie. Im Mai 1972 wurde ich zum Medizinstudium zugelassen. Im März 1973 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im September 1974 die ärztliche Vorprüfung ab. Im September 1975 bestand ich den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung (nach der neuen Approbationsordnung).

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. K. Löffelholz
für die Überlassung des Themas und die geduldige Unterstützung
bei der Durchführung der Arbeit herzlich danken.

Fräulein Ute Wolf danke ich für die Hilfestellung bei den
Präparationen.

